

폐암의 Biology와 조기진단

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

송 정 섭

폐암은 미국에서 남녀 공히 암으로 인한 사망원인의 1위를 차지하고 있고 한국에서도 최근 사망률 1위가 된 암으로 근래에 그 빈도 및 사망률이 급격히 증가하고 있어 사회문제가 되고 있다. 폐암은 한국에서 2000년도 사망자료에 근거하면 인구 10만명당 24.4명의 사망을 일으켜 남자에서는 암사망중 1위, 여자에서는 2위를 차지하고 있다(통계청, 2001)¹⁾. 또한 2001년도 폐암의 국내 발생율도 남자에서는 위암에 이어 2위로 상승하였고 여자에서도 유방암, 위암, 대장암, 자궁경부암, 갑상선암에 이어 6위를 차지하고 있다. 전세계적으로도 2001년도에 폐암으로 인한 사망이 100만명이 넘었을 것으로 추정되고 현재 매년 폐암의 발생이 전세계적으로 0.5%씩 증가하고 있다²⁾.

폐암은 이미 진행된 상태에서 진단되는 경우가 많아 진단 후 중앙 생존기간이 6-12 개월이고 5년 생존율이 5-10%에 지나지 않아 1970년도부터 흉부 X-선, 객담 cytology 등을 이용하여 조기진단을 하려는 노력이 많았으나 결과는 사망률을 낮추지 못하였다는 부정적 결과이었다³⁾. 그러나 최근들어 low-dose CT, 자가형광기관지내시경(autofluorescence bronchoscope), 분자생물학적 방법등 새로운 방법을 이용한 폐암의 조기진단을 위한 노력이 여러 각도로 진행중에 있어 폐암의 biology와 이를 이용한 진단방법 등에 관하여 소개하고자 한다.

폐암의 분자생물학적 이상 : 세포주기의 질환

암의 억제유전자, telomere, oncogene이 세포의 성장과 분열에 깊숙히 관여하고 있으므로 암은 세포주기의 조절에 이상이 생겨 발생한다고 볼 수 있다. 세포의 주기는 DNA가 합성되는 S phase, 세포분열이 일어나는 M phase 및 그 사이의 G1, G2 phase로 구성된다(그림 1). 세포주기에 관계하는 주요인자로 cyclin, cyclin-dependent kinase (Cdk), retinoblastoma (Rb), P53, E2F 단백질이 있다. 각각의 Cdk는 cyclin subunit에 의해 조절

된다. 세포주기의 첫 단계는 G1 phase의 후기에 일어나며 platelet derived growth factor (PDGF)와 insulin-like growth factor-I (IGF-I)가 이 단계에서 상호반응을 일으켜 세포의 증식을 자극한다. 이러한 성장인자는 폐암 세포에서 만들어져서 폐암의 성장을 더욱 촉진한다. 즉, 성장인자는 각각의 수용체와 결합하여 수용체의 dimerization, 인산화와 성장 신호를 핵에 보낸다. 성장 촉진신호가 세포표면에서 핵으로 전달되면 G1 phase의 초기에 D-type cyclin이 증가한다. Cyclin D1은 cdk4/6와 복합체를 이루어 Rb 단백을 인산화시킨다(그림 2). 폐암에서 cyclin D1의 과발현은 흔한 현상이다⁴⁾. G1 phase에서 Rb의 과인산화는 전사인자인 E2F를 방출하고 이는 S-phase 유전인자인 thymidine kinase, c-myc, dihydrofolate reductase, Cdc6, DNA polymerase- α 등을 활성화시킨다.

G1 진행에 2 종류의 Cdk 억제제가 결정적이다(그림 3). 9p21 염색체의 Ink4 family는 INK4a, b, c, d의 4 유전자를 encode하며 이들의 생산물은 cyclin D-Cdk4/6dimer와 결합하여 kinase 기능을 불활성화시킨다. Kip1 family인 p21, p27, p57은 cyclin D-Cdk 4/6, cyclin E-

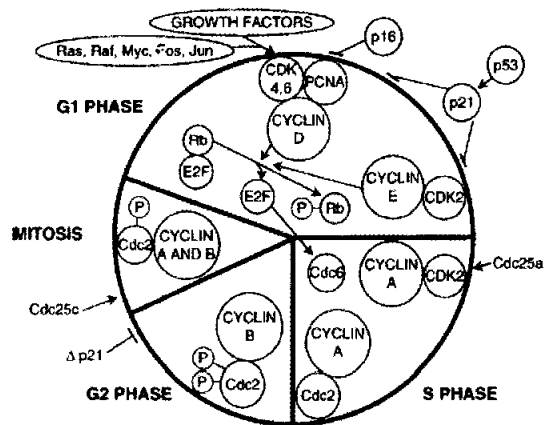


Figure 1. Cell-cycle regulators implicated in lung cancer

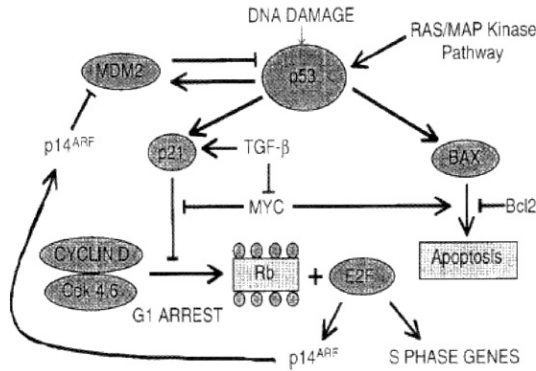


Figure 2. P53 and Rb pathways in molecular carcinogenesis

Cdk2, cyclin A-Cdk2 복합체와 결합한다. cyclin E-Cdk2 복합체가 G1 phase에서 G2로 진행을 매개하며 cyclin A 발현은 S phase의 시작과 함께 현저히 증가된다. Cyclin A-Cdk2의 기능은 DNA의 복제와 G2/M 이행에 필요하다. P53 기능의 상실은 P21을 감소시켜 cyclin D-Cdk 및 cyclin E-Cdk의 활동을 증가시켜 Rb 유전자의 과인산화가 유도되고 E2F가 증가된다. 암 억제유전자인 Rb의 불활성화는 세포내 E2F가 증가된 것과 같은 효과를 나타낸다. Rb와 P53간의 협력이 DNA의 손상이 있을 때 G1 arrest나 apoptosis를 유도하고 Rb의 상실로 apoptosis를 야기하게 된다. P53에 의존한 apoptosis를 예방하는 것이 암의 발생에 중요하며 wild-type P53을 갖고 있는 폐암은 MDM2 유전자를 과표현하며 이것이 P53 transactivation domain가 결합하여 p53을 파괴시킨다. MDM2의 과표현은 wild-type의 P53에 의한 세포성장의 억제를 극복한다(그림 2).

E2F는 S-phase유전자를 활성화시키는 전사인자이므로 E2F는 세포주기내에서 DNA의 복제에 아주 중요하다. DNA의 복제는 origin recognition complex (ORC) 단백질에 의해 일부 조절되는데 ORC 단백질은 DNA 복제의 시작을 조절하는 Cdc6과 결합되어 있다. G1/S transition은 E2F 단백질에 의해 조절되는데 anti-cdc6 항체로 Cdc6를 없애면 DNA 복제의 시작을 막을 수 있다. 폐암에서는 E2F가 자유로와 Cdc6를 증가시켜 세포주기가 통제되지 않아 비정상적인 세포의 증식이 야기될 수 있다. Cdc6는 세포주기가 통제되지 않는 marker일 수 있고 따라서 암의 발견이나 치료의 표적이 될 수 있다.

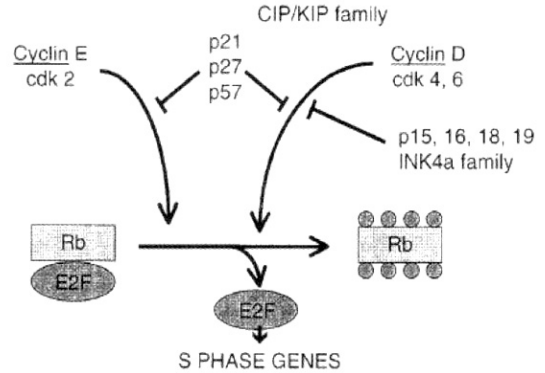


Figure 3. Sites where p21 and p16 work as checkpoint inhibitors in the cell cycle

1. 폐암과 유전자

P53 : P53 암 억제유전자는 암에서 가장 흔히 변이를 보이는 유전자로 폐암에서도 비소세포폐암의 50%, 소세포폐암의 70%에서 변이가 관찰된다. P53의 변이는 폐암 환자에서 흡연등의 환경적 발암물질에 노출되었음을 나타낸다. P53 단백질은 핵의 전사인자로 P21 promotor에 결합하여 P21의 발현을 증가시켜 세포주기의 G1에서 S로의 진행을 억제하는 기능을 한다. P53의 변이는 P21을 활성화하지 못하여 세포주기의 진행을 막지 못하게 된다.

P53은 apoptosis를 촉진하는 유전자인 bax를 유도하기도 한다⁵⁾. p53은 염색체 17p에 위치하며 393개의 아미노산으로 구성되어 있다. 폐암에서 p53의 변이는 codon 157, 245, 248, 273의 중간에 위치한 유전자에 모여있다. 이들 codon은 CpG islands를 함유하며 폐암에서의 P53 변이는 이 CpG site에서 guanine이 thymine으로 치환되어 발생한다. 대장암, 간암, 전립선암 등에서 codon 248, 273의 변이는 흔히 관찰되지만 codon 157의 변이는 폐암에서만 관찰된다.

P53에 의해 자극되는 또다른 유전자로 세포의 성장을 억제하고 DNA의 손상에 관계하는 Gadd 45 유전자가 있다. Gadd 45는 proliferating cell nuclear antigen (PCNA)와 결합하여 성장을 억제하고 손상된 DNA를 복구 수선하는데 관여한다.

P16 : P16 단백질은 chromosome 9p21에서 유래하여 Cdk4와 결합하여 Rb의 인산화를 막는다(그림 2). P16 기능의 상실은 Rb의 과도한 인산화를 초래하여 Rb의 불

활성화를 초래한다. P16의 불활성화는 deletion, point mutation 또는 p16의 첫번째 exon을 싸고 있는 CpG sequence의 methylation 등에 의해 일어난다. 비소세포 폐암의 초기에 DNA의 methylation에 의해 p16이 기능을 상실할 수 있고 후기에는 deletion 이나 mutation에 의한 p16의 기능 상실이 흔히 관찰된다. P16/pRb와 p53의 변이가 비소세포폐암 세포주의 증식을 촉진시키고 폐암 환자의 생존율이 낮은 것과 관계가 있다. Rb의 돌연변이와 p16의 발현간에는 역상관관계가 있다. 소세포폐암에서 Rb는 90%가 변이를 나타내나 p16은 정상이며 비소세포폐암에서 p16은 23%로 소세포폐암의 1%보다 많은 변이를 보이나 Rb는 보통 정상이다. 이러한 조절되지 않는 Rb 경로는 아마도 p53의 과발현과 MDM2의 감소와 관계가 있는 것 같다⁶.

K-ras : 폐의 선암에서 K-ras 종양유전자의 12번째 codon에 있는 point mutation에 의한 활성화가 약 50%에서 관찰된다⁷. 기관지폐포세척(BAL)으로 회수한 세포에서 PCR로 측정한 K-ras의 돌연변이도 선암에서는 50% 가까이에서 관찰되었으나 편평상피세포암에서는 전혀 관찰되지 않았다⁸. 또한 이러한 K-ras의 codon 12의 point mutation이 폐암의 예후가 불량하고 생존기간이 짧은 것과 유관하다고 하였다⁹.

C-myc : c-myc proto-oncogene은 소세포폐암에서 흔히 증폭되며 비소세포폐암에서 드물게 증폭된다. c-myc은 G1-specific CDK의 positive regulator로 특히 cyclin E/CDK2 복합체에 대하여 그러하다. c-myc 단백질은 폐암 조직에서 과발현되며 이는 폐암 조직에서 세포주기가 활성화되어 있는 것과 일치한다. c-myc은 CDK의 억제인자인 p27을 불활성화하여 cyclin E/CDK2를 증가시키고 그 활성도의 감소를 억제한다. c-myc 유전자의 증폭 또는 과발현은 소세포폐암의 80-90%에서 관찰되지만 비소세포폐암에서는 10%에서만 c-myc 유전자의 증폭이 관찰된다. 그러나 c-myc 유전자의 증폭없는 과발현은 비소세포폐암의 50% 이상에서 관찰된다¹¹.

2. 염색체 이상

1) 기관지 상피세포에서 암 전단계의 변화

폐암의 발생은 정상 기관지 상피세포가 여러단계의 변화를 거쳐 비로서 암이 발생하는 것으로 생각되고 있다. 즉, 정상세포가 hyperplasia, metaplasia, dysplasia의

다단계를 거쳐 암으로 진행되며 그러한 과정중에 염색체의 돌연변이가 자주 관찰된다. 즉 3p 염색체에는 (3p14.2) 흡연과 폐암에 관계된 암 억제유전자가 존재하는데¹² 폐암이나 기관지의 암 전단계의 병소에서 fragile histidine triad (FHIT) 유전자라고 불리우는 것의 allele deletion 또는 변이가 흔히 관찰된다¹³⁻¹⁵. 기관지 상피세포가 여러 단계를 거쳐 암으로 진행하는데 각 단계에서 p53의 돌연변이를 관찰하면 점차 암으로 진행할수록 p53의 변이율이 증가한다¹⁶. 폐암이 없는 장기간 흡연한 사람에서 기관지 생검을 하여 암 억제유전자를 함유하고 있는 3p14, 9p21 (p16), 17p13 (p53)에 LOH가 다수 발견된다¹⁷. P16과 p53의 손실이 암발생의 억제경로를 상실하여 폐암발생에 결정적인 역할을 할 것으로 생각된다.

2) Telomere와 Telomerases

Telomere는 반복되며 복제되지 않는 DNA (TTA-GGG)의 핵단백구조물로서 염색체의 말단부위를 보호한다. 만일 telomere가 이러한 telomere의 길이와 기능을 유지하는 데는 telomerase라는 역전사효소가 필요한데 정상 세포에서는 telomerase 활성도가 매우 약하거나 없어서 세포 분열 때마다 telomere의 길이가 짧아져 결국은 세포의 노화가 일어난다. 역으로 telomerase가 활성화되면 세포가 계속 증식할 수 있다. 폐암 환자에서 기관지 폐포세척으로 얻은 폐암 세포의 telomerase 활성도가 82%에서 관찰되며¹⁸ 반면에 cytology에서 암세포의 발견은 단지 41%에 불과하였다. 중요한 점은 정상 기관지 상피세포에서보다도 hyperplasia, metaplasia, dysplasia, carcinoma in situ로 진행될수록 telomerase 활성도가 점차 증가한다는¹⁹ 사실이다.

폐암에서 관찰되는 분자생물학적 이상소견을 요약하면 다음과 같다⁴⁶(표 1).

2. 폐암의 조기진단

1) 흉부 X-선과 객담 세포진검사

1970년대에 미국의 National Cancer Institute에서는²⁰ Memorial-Sloan Kettering Institute²¹, Johns Hopkins University²² 및 Mayo Hospital^{23,24}의 3개 기관을 지원하여 폐암의 조기발견을 위한 연구를 시행하였으며 체코슬로바키아에서도 비슷한 연구가 시행되었다^{25,26}. 이들 연구의 결론은 폐암을 조기발견하기 위하여 정기적

Table 1. Molecular and genetic abnormalities in lung cancer

Genes	Mutation	Abnormal expression frequency	
		NSCLC (%)	SCLC (%)
Oncogenes			
K-ras	Point mutation (codon 12)	30	Not reported
MYC	DNA amplification expression	10	10 - 40
c-erB-2	Increased expression	25	Not reported
BCL-2	Expression of protein	25	Not reported
Tumor-suppressor genes			
3p	Deletion	50	90
RB	Deletion, altered protein expression, and phosphorylation	15	> 90
P53	Deletion, point mutation, and overexpression	50	80
P16 ^{INK4A}	Expression of protein	60	Not reported

Table 2. Mayo Lung Project²⁴⁾

	시험군	대조군
Population	4,618	4,593
Incidence	206 (4.5%)	160 (3.5%)
Resectability	46%	32%
5-yr survival	33%	15%
Fatality	59%	72%
Mortality	122	115

으로 흉부 X-선 촬영(및 객담 세포진검사)을 시행하면 폐암을 초기에 발견하는율을 높이지만 사망률을 줄이지는 못한다는 것이다. 이 연구결과에 근거하여 현재까지도 폐암의 조기발견을 위하여 이들 방법을 이용한 집단검사를 권하고 있지 않다. Mayo Lung Project에서는 시험군은 4개월마다 흉부 X-선 및 객담세포진 검사를 시행하였고 대조군은 1년에 한번 정기검사를 권유하되 정기적으로 시행하지는 않았다. 이런 식으로 6년간 검사를 시행후 평균 3년간 관찰하여 결과를 비교하여 다음의 결과를 얻었다(표 2). 시험군에서는 대조군에 비하여 폐암의 발생빈도가 높았고(4.5% vs 3.5%) 병기가 초기인 경우도 많아 수술이 가능한 경우도 많았다(46% vs 32%). 또한 5년 생존율도 높았고(33% vs 15%) 치사율도 낮았으나(59% vs 72%) 전체적인 사망은 오히려 시험군이 대조군보다 높았다(122명 vs 115명). 따라서 조기발견을 위한 노력이 폐암의 사망을 줄이지는 못하였다고 결론을 지었다.

Table 3. 체코슬로바키아 연구

	시험군	대조군
Population	3,172	3,174
Incidence	36	19
Resectability	25%	15%
5-yr survival	23%	0%
Fatality	28	1%
Mortality	85/108	67/82

체코슬로바키아 연구에서는(표 3) 폐암이 없는 남자 흡연자들을 대상으로 시험군은 매 6개월마다 3년간 흉부 X-선 촬영 및 객담 세포진검사를 시행하였고 대조군은 아무런 검사를 하지 않았다. 시험기간이 끝난 후 3년간 두 그룹 모두 매년 흉부 X-선 촬영을 하여 비교하였다. 이 연구의 결과도 시험군에서 폐암환자의 발생이 발생 및 사망이 많았고 수술율 및 5년 생존율도 높았으나 사망률이 높아 Mayo Lung Project와 비슷한 결과를 보였다. 이들 시험의 비교 parameter 중에서 폐암의 발생빈도, 수술가능성, 5년 생존율, 치사율(fatality) 보다 사망률(mortality)이 가장 중요한 종말점(end point)로 여기는 것은 사망률 이외에 다른 지표들은 잘 알려진 바이어스(bias)에 의해 영향을 받기 때문이다.

Selection bias : 폐암환자가 시험군에 많이 선택되어 폐암이 시험군에 많다는 것인데 이들 실험은 무작위 배정을 하였으므로 이것이 원인일 가능성은 없다.

Lead-time bias : 폐암이 치명적이므로 시험군에서

조기발견을 하여 발병율이 높아지고 진단 후 생존기간도 대조군보다 길어지지만(lead time) 사망률에 차이가 없다는 것인데 만일 그렇다면 3년간의 시험기간에 시험군에 환자가 많이 발견된 만큼 이후 3년간의 추적기간에 대조군에서 환자가 많이 발생하여야 하는데 두 연구 모두에서 추적기간에도 시험군에서 환자가 많이 발생하여 lead-time bias로 발생율의 차이를 설명하기는 곤란하다.

Length-time bias : Indolent 한 종양은 비교적 긴 pre-clinical phase를 갖으므로 시험군에 많이 발견되어 survival과 fatality에 개선을 보이지만 보다 빠르게 성장하는 종양은 증상이 빨리 나타나고 그때에 발견되므로 시험군과 대조군에 똑 같은 숫자가 발견되어 결과적으로 시험군에 indolent한 종양이 많이 발견되어 발생율도 높다는 것이다. 그렇지만 Mayo Lung Project에서 prevalence case가 91명으로 incidence case의 366명의 1/4에 지나지 않으므로 length bias가 큰 영향을 끼치지 않는다고 할 수 있다²⁷⁾.

Overdiagnosis bias : 시험군에서 임상적으로 중요하지 않은 병소를 발견하여 survival, fatality, resec-

tability등에 좋은 영향을 끼치는 경우를 말하며 over-diagnosis bias는 lead time이 무한정으로 길 때 나타난다. 그런 폐암은 현재 가장 치명적인 암으로 전립선암과 같이 오랫동안 진행하지 않는 경우란 매우 드물어 over-diagnosis로 시험군에서 폐암의 발견이 증가하였다는 것은 무리이다.

Memorial-Sloan Kettering Lung Project와 Johns Hopkins Lung Project에서는 폐암 조기발견을 위한 검사 방법으로 흉부 X-선 검사 및 객담 세포진검사를 같이 하는 것과 흉부 X-선 검사만을 하는 것을 비교하였다. 즉, 흉부 X-선 촬영을 1년에 한번 촬영하는 군과, 1년에 한번 흉부 X-선 촬영에 더하여 객담 세포진검사를 4개월에 한번씩 추가한 군을 비교하였는데 두 군간에 환자의 발생율, 수술적 절제율, 5년 생존율, 사망률에서 차이가 없어²¹⁾ (표 4) 결론은 객담 세포진검사를 추가하는 것이 폐암의 조기발견에 아무 도움이 되지 않는다는 것이었다.

2) Low dose spiral CT scan

Low dose spiral CT를 이용한 폐암 선별법은 폐암의 가능성이 있는 작은 폐결절을 발견하는데 민감함을 보여주고 있다(표 5).

무증상의 집단을 대상으로 시행한 low-dose CT에서 폐암은 일본에서는 0.43%³⁰⁾ 및 0.48%³¹⁾, 미국에서는 2.7% 까지 발견되었다. 발견된 폐암 중 병기 1에 해당하는 것이 63% 에서 93%까지 차지하였다(표 5). 모든 연구에서 침습적 검사를 시행한 병변 중 양성은 25% 미만이었다. 이러한 low-dose CT 검사로 초기(baseline) 검사의 결과(유병률, prevalence)에 추가하여, 반복검사 결

Table 4. Memorial-Sloan kettering Lung Project

	Chest X-ray & Sputum Cytology	Chest X-ray
Population	5,073	4,968
Incidence	144	144
Resectability	53%	51%
5-year survival	35%	35%
Mortality	90	92

Table 5. Design, prevalence and incidence results of different low-dose CT screening studies

	ALCA30	Shinshu ³¹⁾	ELCAP ²³⁾	Mayo ³²⁾	Munster ²⁸⁾
Study design Age (yrs)	>40	>40	>60	>50	>40
Smoking (pk-yr)	>20	±	>10	>20	>20
CT interval (Mo)	6	12	12	12	12
Prevalence results Volunteers (total)	1,369	3,967	1,000	1,520	919
Lung Ca at CT	15 (0.43%)	19 (0.48%)	27 (2.7%)	21 (1.4%)	13 (1.4%)
NSCLC	15	19	27	19	10
Stage 1	14 (93%)	16 (84%)	23 (85%)	12 (63%)	8 (62%)

ALCA: Anti lung cancer association (Japan)

ELCAP: Early lung cancer action project

과(발생빈도, incidence)도 보고되고 있다. 추적 CT를 시행하면 초기 CT에 비하여 새로이 발견되는 폐결절의 수가 적고, 폐결절의 성장 여부를 확인할 수 있어 경피적 폐생검등 침습적 검사를 하여야 하는지 단순히 추적 검사만 해도 되는지를 결정할 수 있다. 이러한 연구에서 폐암의 발생빈도는 유병율에 비하여 매우 낮다.

Low-dose CT에서 폐의 결절의 발견은 단순 흉부 X-선에 비하여 보다 예민하고 이런 결절의 일부는 폐암으로 나타났다. 즉 CT는 폐암을 1,000명당 27명을 발견하고 흉부 X-선은 9.1 내지 7.6명을 발견하고 CT는 수술적 절제가 가능한 초기의 폐암 발견이 높았다. 그러나 low-dose CT 군에서 진행된 폐암의 발견이 감소하지 않아 이것이 진정한 의미의 stage shift 인지는 확실하지 않다. Low-dose CT 군에서 stage shift가 없다면 사망율의 감소를 기대하기 어렵기 때문에 그러한 경우에는 Low-dose CT의 선별가치는 없어진다고 볼 수 있다.

Low-dose CT에서 관찰되는 불확실한 결절(indeterminate nodule)에 대하여 추적검사를 할지 적극적인 침습적 검사를 할지 또한 추적검사시에는 얼마의 기간을 두고 하여야 할지에 대하여는 아직 일치된 견해가 없다. 불확실한 결절이라 함은 고형이며 경계가 평활하고 반면에 "benign calcification"이거나 air-bronchogram 또는 converging vessel을 보이지 않을때를 말한다. 이러한 결절의 크기가 10 mm 이상이면 이중 30-80%가 악성이므로 즉각 조직검사를 시행하고 5-10 mm이면 이중 25-30%가 악성이므로 적당한 간격으로 3, 6, 12, 24 개월에 고해상 CT로 추적검사하여 크기가 커지면 조직검사를 하고 결절이 5 mm 미만이면 1% 만이 악성이므로 같은 간격으로 CT를 추적검사하여 조직검사의 여부를 결정한다³³⁾.

현재 미국에서는 국립암연구소(NCI)에서 폐암의 위험성이 높은 88,000명을 대상으로 매년 low-dose CT와 (시험군) 흉부 X-선을(대조군) 촬영하여 CT의 폐암 조기발견 유용성을 조사하는 대규모 randomized controlled study를 시행중이며 CT가 폐암으로 인한 mortality를 20% 감소시킬수 있는지를 목표로 하고 있다³⁴⁾.

3) 생물학적 선별검사(Biological screening)

폐암의 조기진단에 객담의 cytology는 도움이 되지 못한다는 것은 입증은 되었지만 폐암의 발생에 관여하였으리라고 생각되는 생물학적 표지자에 대한 연구는

현재 활발히 진행중이다.

A2/B1 : 세포 핵의 ribonucleoprotein인 A2/B1은 암 전단계의 기도 상피세포에서 발현이 증가하여 폐암이 객담 세포진 검사에서 발견되거나 흉부 X-선에 나타나기 1년전에 객담에서 A2/B1의 증가가 나타나고^{35, 36)} 실제 폐암의 위험이 높은 중국의 주석 노동자에서 폐암의 선별검사로 유용함이 밝혀졌다³⁷⁾. 이 연구에서 객담의 hnRNP-A2/B1 면역염색으로 본 폐암 발견의 감수성이 74%로 객담 세포진검사 21%, 흉부 X-선의 42%에 비하여 매우 높았으나 특이성은 70%로 낮은 편이었다. 그러나 또 다른 연구에서 폐암으로 진행된 흡연자의 객담에서 hnRNP를 이용한 폐암 선별검사의 예민도가 91%, 특이도가 88%인 좋은 결과를 얻었다³⁵⁾.

Computer-assisted cytometry : 객담세포진검사의 문제점은 폐암이 있는 경우에도 암세포의 발견이 안되는 경우가 많은데 있다. 정상 기도상피세포가 암으로 되기 이전에 핵에 DNA의 분포에 변화가 오는 등, malignancy associated change(MAC)가 나타남이 1950년대에 밝혀졌고 객담에서 quantitative microscopy를 이용하여 핵에서 MAC를 관찰하여 폐암의 조기진단에 이용하는 연구가 현재 진행중이다. 이 방법은 세포를 Feulgen 염색 후 고해상도 디지털카메라로 스캔하여 현미경에서 핵의 영상을 자동으로 저장하여 핵의 형태, 염색체의 분포, 구성의 특징 등 120가지 이상을 분석하여 "MAC value"를 얻어 진단에 이용한다. Mayo Lung Project에서 보관중이던 20년 이상된 객담 슬라이드를 이 방법으로 재분석한 결과 폐암 발생 이전에 이미 74%에서 핵의 변화가 있음을 관찰하였다³⁸⁾.

P53, K-ras : 폐암에서 P53의 돌연변이는 자주 관찰되는 현상이지만 흡연자에서 편평상피세포암이 발생하는 초기 표지자로 기관지상피세포 핵에 p53이 축적되는 것을 면역조직화학염색법으로 확인하는 방법이 보고되고 있다³⁹⁾. 또한 보관된 객담에서 p53 또는 K-ras 유전자의 point mutation이 있는 것을 폐암이 발생하기 1년전에 PCR로 증명한 것도 보고되었다⁴⁰⁾.

Microsatellite instability : 특히 소세포폐암 환자의 혈청의 DNA에서 microsatellite instability와 LOH (loss of heterozygosity)가 많이 발견되고⁴¹⁾ 비소세포폐암 환자의 기관지폐포세척액에서도 53%에서 microsatellite instability가 발견되어⁴²⁾ 이를 폐암의 조기발견에 이용할 수 있을것으로 생각된다.

P16 methylation : P16 암억제유전자는 9p21 염색체에 위치하며 비소세포폐암 세포주의 70% 이상에서 불활성화 되어 있다. 이는 주로 promoter 부위의 hyper-methylation에 기인하며 이러한 변화는 폐암이 발생하기 전 단계로 여겨지는 hyperplasia나 adenoma 에서도 발견되며⁴³⁾ 객담을 이용한 연구에서도 p16의 hypermethylation이 관찰되어⁴⁴⁾ 폐암 조기진단의 표지자로 이용될 수 있을것이다.

4) Autofluorescence bronchoscopy

북미에서 LIFE (Lung Imaging Fluorescent Endoscope, Xillix Corp., Vancouver, British Columbia) 기관지내시경을 이용하여 폐암 전 단계의 중등도 이상의 dysplasia, preinvasive한 폐암을 발견하는데 진단적 가치가 있다고 하였다⁴⁵⁾. 이 방법은 기존의 white light 을 이용한 기관지내시경과 달리 violet 또는 blue light (400-440 nm)을 기관지 조사하여 dysplasia나 carcinoma in situ를 진단하는 방법이다. 이 방법은 조기 폐암을 발견하거나 수술 부위를 결정하는데 유용하지만 단점은 위양성률이 높다.

맺 음 말

최근까지 폐암의 조기발견을 위한 선별검사, 특히 흉부 X-선과 객담 세포진검사가 폐암의 사망률을 줄이는데 도움을 주지 못한다고 알려져 왔으나 low-dose HRCT 등을 이용한 보다 세밀한 검사방법등의 이용으로 조기진단이 가능할 것으로 기대된다. 더욱이 폐암의 biology가 밝혀지면서 유전자 손상이 폐암의 발생에 관여함이 입증되어 객담이나 혈청등 쉽게 얻을수 있는 표본을 이용하여 면역학적 방법을 동원하거나 PCR로 유전자의 돌연변이를 검사하거나 promotor의 methylation을 관찰하는 방법등도 임상에서 이용될 수 있을것으로 기대된다. 그외에도 autofluorescence bronchoscopy나 PET-scan등의 발달은 폐암을 조기에 발견할 수 있으리란 기대를 갖게 하며 폐암의 위험성이 높은 집단 즉, 가족력이 있거나 COPD 환자, 장기간의 흡연자들을 대상으로 이상의 방법을 적절히 이용하면 수술이 가능한 낮은 병기에서 폐암을 발견하여 폐암 사망률을 낮추는데 기여할 것으로 예상된다.

REFERENCES

- 1) 통계청. 2000년 사망원인 통계결과. 2001
- 2) Spiro SG., Porter JC. *Lung cancer-Where are we today?. Current advances in staging and nonsurgical treatment.* Am J Respir Crit Care Med 166: 1166-1196, 2002
- 3) Eddy D. *Screening for lung cancer.* Ann Intern Med 111:232-237, 1989
- 4) Schaur EI, Siriwardana S, Langan TA, Sciafani RA. *Cyclin D1 overexpression vs. retinoblastoma inactivation: implications for growth control evasion in non-small cell and small cell lung cancer.* Proc Natl Acad Sci USA, 91:7827-7831, 1994
- 5) Prives C. *Signaling to p53: breaking the MDM2-p53 circuit.* Cell 95: 1437-1443, 1998
- 6) Gorgoulis VG, Zacharatos P, Kotsinas A, et al. 1998. *Alterations of the p16-pRb pathway and the chromosome locus 9p21-22 in non small-cell carcinomas.* Am J Pathol 153:1749-1765, 1998
- 7) Mills NE, Fishman CL, Rom WN, Dubin N, Jacobson DR. *Increased prevalence of K-ras oncogene mutations in lung adenocarcinoma.* Cancer Res 55:1444-1447, 1995
- 8) Mills NE, Fishman CL, Scholes J, Anderson SE, Rom WN, Jacobson DR. *Detection of K-ras oncogene mutations in bronchoalveolar lavage fluid as a diagnostic test for lung cancer.* J Natl Cancer Inst 87:1056-1060, 1995
- 9) Slebos RJC, Kibbelaar RE, Dalesio O et al. *K-ras oncogene activation as a prognostic marker in adenocarcinoma.* N Engl J Med 9:561-565, 1990
- 10) Viellet J and Minna J. *Dominant oncogenes and tumor suppressor genes in the pathogenesis of human lung cancer.* Am J Respir Cell Mol Biol 2:225-232, 1993
- 11) Broers JLV, Viallet J, Jensen SM, Pass H, Travis WD, Minna JD, Linnoila RI. *Expression of c-myc in progenitor cells of the bronchopulmonary epithelium and in a large number of non-small cell lung cancers.* Am J Respir Cell Mol Biol 9:33-43, 1993
- 12) Hung JY, Kishimoto Y, Sugio K. et al. *Allele-specific chromosome 3p deletions occur at an early stage in the pathogenesis of lung carcinoma.* JAMA 273:558-563, 1995
- 13) Sozzi G, Veronese ML, Negrini M. et al. *The FHIT gene at 3p14.2 allele loss are common in lung cancer.* Cell 85:17-26, 1996
- 14) Fong KM, Biesterveld EJ, Virmani A. et al. *FHIT*

- and FRA3B 3p14.2 allele loss are common in lung cancer and preneoplastic bronchial lesions and are associated with cancer related FHIT cDNA splicing aberrations. Cancer Res 57:2256-2267, 1997*
- 15) Sozzi G, Sard L, DeGregorio L. Et al. Association between cigarette smoking and FHIT gene alterations in lung cancer. *Cancer Res 57:2121-2123, 1997*
- 16) Bennett WP, Colby TV, Travis WD. Et al. P53 protein accumulates frequently in early bronchial neoplasia. *Cancer Res 53:4817-4822, 1993*
- 17) Mao I., Lee JS, Kure JM. Et al. Clonal genetic alterations in the lungs of current and former smokers. *J Natl Cancer Inst 89:857-862, 1997*
- 18) Yahata N, Ohyashiki K, Ohyashiki JH et al. Telomerase activity in lung cancer cells obtained from bronchial washings. *J Natl Cancer Inst 90:684-690, 1998*
- 19) Yashima K, Litzky LA, Kaiser L et al. Telomerase expression in respiratory epithelium during the multistage pathogenesis of lung carcinomas. *Cancer Res 57:2373-2377, 1997*
- 20) Berlin NI, Buncher CR, Fontana RS, Frost JK, Melamed MR. *The National Cancer Institute Cooperative Early Lung Cancer Detection Program. Am Rev Respir Dis 30:545-549, 1984*
- 21) Melamed MR, Flehinger RB, Zaman MB, Heelam RT, Perchick WA, Martini N. Screening for early lung cancer: Results of the Memorial-Sloan Kettering study in New York. *Chest 86:44-53, 1984*
- 22) Tockman M. Survival and mortality from lung cancer in a screened population: The Johns Hopkins study. *Chest 89:324S-325S, 1986*
- 23) Fontana R, Sanderson DR, Woolner LB, et al. Lung cancer screening: The Mayo Program. *J Occup Med 28:746-750, 1986*
- 24) Fontana R, Sanderson DR, Woolner LB, et al. Screening for lung cancer, a critique of the Mayo Lung project. *Cancer 67:1155-1164, 1991*
- 25) Kubik A, Polak J. Lung cancer detection: Results of a randomized prospective study in Czechoslovakia. *Cancer 57:2427-2437, 1986*
- 26) Kubik A, Parkin DM, Khlát M, Erban J, Polak J, Adamec M. Lack of benefit from semi-annual screening for cancer of the lung: Follow-up report of a randomized controlled trial on population of high risk males in Czechoslovakia. *Int J Cancer 45:26-33, 1990*
- 27) Strauss GM, Gleason RE, Sugarbaker DJ. Screening for lung cancer. Another look: a different view. *Chest 111:754-768, 1997*
- 28) Diederich S, Wormanns D, Semik M, et al. Screening for early lung cancer with low-dose spiral CT: prevalence in 817 asymptomatic smokers. *Radiology 222:773-781, 2002*
- 29) Henschke CI, McCauley DI, Yankelevitz DF, et al. Early Lung Cancer Action Project: overall design and findings from baseline screening. *Lancet 354:99-105, 1999*
- 30) Kaneko M, Eguchi K, Ohmatsu H, et al. Peripheral lung cancer: screening and detection with low-dose spiral CT versus radiography. *Radiology 201:798-802, 1996*
- 31) Sone S, Takashima S, Li F, et al. Mass screening for lung cancer with mobile spiral computed tomography scanner. *Lancet 351:1242-1245, 1998*
- 32) Swenson SJ, Jett JR, Sloan JA, et al. Screening for lung cancer with low-dose spiral computed tomography. *Am J Respir Crit Care Med 165:508-513, 2002*
- 33) Aberle DR, Gamsu G, Henschke CI, Naldich DP, Swensen SJ. A consensus statement of the society of thoracic radiology. Screening for lung cancer with helical computed tomography. *J Thorac Imaging 16:65, 2001*
- 34) Patz EF, Goodman PC, Bepler G. Screening for lung cancer. *N Engl J Med 343:1627, 2003*
- 35) Tockman MS, Gupta PK, Myers JD, Frost JK, Baylin SB, Gold EB, Chase AM, Wilkinson PH, Mulshine JL. Sensitive and specific monoclonal antibody recognition of human lung cancer antigen on preserved sputum cells: a new approach to early lung cancer detection. *J Clin Oncol 6:1685-1693, 1988*
- 36) Tockman MS, Erozan YS, Gupta P, Piantadosi S, Mulshine JL, Ruckdeschel JC. The early detection of second primary lung cancers by sputum immunostaining. Lung Cancer Early Detection Group Investigators. *Chest 106:385S-390S, 1994*
- 37) Qiao YL, Tockman MS, Li L, Erozan YS, Yao SX, Barret MJ, Zhou WH, Giffen CA, Luo XC, Taylor PR. A case-cohort study of an early biomarker of lung cancer in a screening cohort of Yunnan tin miners in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 6:893-900, 1997*
- 38) Payne PW, Sebo TJ, Doudkine A, Garner D, MacAulay C, Lam S, Leriche JC, Palcic B. Sputum screening by quantitative microscopy: A reexamination of a portion of the national cancer institute cooperative early lung cancer study. *Mayo Clin Proc 72:697-704, 1997*
- 39) Piyathilake CJ, Frost AR, Manne U, Weiss H, Heimbürger DC, Grizzle WE. Nuclear accumulation of p53 is a potential marker for the development of squamous cell lung cancer in smokers. *Chest 123:181-*

186, 2003

- 40) Mao L, Hruban RH, Boyle JO, Tockman M, Sidransky D. *Detection of oncogene mutations in sputum precedes diagnosis of lung cancer. Cancer Res* 54: 1634-1637, 1994
- 41) Cuda G, Galleli A, Nistico A, Tassone P, Barbieri V, Tagliaferri PS, Costanzo FS, Tranfa ME, Venuta S. *Detection of microsatellite instability and loss of heterozygosity in serum DNA of small and non-small cell lung cancer patients: a tool for early diagnosis. Lung cancer* 30:211-214, 2000
- 42) Ahrendt SA, Chow JT, Xu LH, Yang SC, Eisenberger CF, Esteller M, Herman JG, Wu L, Decker PA, Jen J, Sidransky D. *Molecular detection of tumor cells in bronchoalveolar lavage from patients with early stage lung cancer. J Natl Cancer Inst* 91:332-339, 1999
- 43) Belinsky S, Nikula KJ, Palmisano WA, Michels R, Saccomanno G, Gabrielson E, Baylin SB, Herman JG. *Aberrant methylation of p16INK4a is an early event in lung cancer and a potential biomarker for early diagnosis. Proc Natl Acad Sci USA* 95:11891-11896
- 44) Belinsky SA, Palmisano WA, Gilliland FD, Crooks LA, Divine KK, Finters SA, Grimes MJ, Harms HJ, Tellez CS, Smith TM, Moots PP, Lechner JF, Stidley CA, Crowell RE. *Aberrant promoter methylation in bronchial epithelium and sputum from current and former smokers. Cancer research* 62:2370-2377, 2002
- 45) Lam S, Kennedy T, Unger M, Miller YR, Gelmont D, Busch V, Gipe B, Howard D, Leriche JC, Coldman A, Gazdar AF. *Localization of bronchial intraepithelial neoplastic lesions by fluorescence bronchoscopy. Chest* 113:696-702, 1998
- 46) Salgia R, Skarin AT. *Molecular abnormalities in lung cancer. J Clin Oncology* 16:1207-1217, 1998